

Модель обучения нейронных сетей в культурах клеток гиппокампа *in vitro*

©2012 Пимашкин А.С.^{1,2}, Гладков А.А.^{1,3}, Мухина И.В.^{1,2}, Бурцев М.С.^{4,5},
Ильин В.А.⁴, Казанцев В.Б.^{1,2}

¹Нижегородский государственный университет им.Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, 603950, Россия

²Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород, 603950, Россия

³Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, 603005, Россия

⁴Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, 123182, Россия

⁵НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва, 125315, Россия

Аннотация. Фундаментальные принципы обучения в нейрональных сетях в последнее время широко исследуется на модели диссоциированных культурах клеток мозга, выращиваемых на мультиэлектродных матрицах. Такие системы позволяют как регистрировать биоэлектрическую активность с различных точек сети, так и стимулировать её по заданному электроду. Показано, что в нейронных сетях, формируемых в развитии культур, можно получить условный биоэлектрический ответ на электрический стимул, предъявляемый на отдельном участке нейронной сети (электроре). Тем не менее, стабильность и воспроизводимость условных ответов до сих пор остаётся основной проблемой. В данной работе предлагается новый подход к реализации экспериментального протокола обучения с обратной связью, позволяющий формировать воспроизводимый условный ответ в нейрональной сети.

Ключевые слова: нейрон, нейрональные сети, мультиэлектродная матрица, нейроанимат, спайки.

1. ВВЕДЕНИЕ

Диссоциированные культуры нейрональных клеток, выращенные на мультиэлектродных матрицах, представляют собой одну из современных моделей исследования механизмов кодирования информации, нейрональной пластичности, обучения и памяти в мозге на сетевом уровне *in vitro* [1, 2, 3]. Планарные микроэлектроды таких мультиэлектродных матриц позволяют непрерывно регистрировать биоэлектрическую активность клеток и одновременно воздействовать электрическими стимулами на клетки в разных участках нейронной сети. С другой стороны, матрицы полностью доступны для оптического имиджинга активности с использованием, как временно вводимых флуорофоров, так и встроенных флуоресцентных белков клеток трансгенных животных. Другим достоинством культуральных экспериментальных моделей является удобство воздействия на отдельные клетки или их подпопуляции при помощи методов оптогенетики, позволяющих избирательно возбуждать или подавлять активность нервных клеток.

Клетки, извлечённые из гиппокампа эмбрионов мышей (на 18-й день развития), культивируются непосредственно мультиэлектродной матрице. В течение 2-4 недель

они формируют нейронную сеть, способную генерировать спонтанные пачечные разряды длительностью 50-300 мсек и частотой повторения 0.1-1 Гц. Последние исследования показывают, что пространственно-временное распределение импульсов (спайков) внутри таких разрядов обладает статистической воспроизводимостью [4–9]. Воспроизводимая структура разряда соответствует наличию стабильной синаптической архитектуры в культуральной нейрональной сети. Изменение структуры разряда и, как следствие синаптической архитектуры, может происходить под воздействием стимулов (сетевая синаптическая пластичность) и использоваться для формирования нейронной сетью адаптивных ответов. Эта задача является одной из приоритетных при создании систем интерфейса между сигналами живых клеток и искусственными исполнительными устройствами для мобильных биороботов (нейроаниматов) [10, 5]. Такие нейрогибридные системы объединяющие «мозг» - сеть нейронов *in vitro*, и «тело» - робота в виртуальной или реальной среде, создают уникальную исследовательскую платформу для современной нейробиологии за счет интеграции клеточной экспериментальной модели с поведением.

При исследовании вызванных ответов в культуральных нейрональных сетях известно, что низкочастотная электрическая стимуляция культуры биполярными импульсами с частотой 0.03-0.1 Гц, приложенная к одному из электродов на мультиэлектродной матрице, вызывает сетевые ответы в виде пачек импульсов, длящиеся в течение сотен миллисекунд после стимула [11, 12]. Однако, при частоте стимуляции 1-5 Гц большинство стимулов не вызывает пачек импульсов или ответ сети со временем уменьшается [13, 14, 3]. Показано, что низкочастотная стимуляция не вызывает ни кратковременных ни долгосрочных изменений функциональной структуры нейронной сети и ответа на стимул [15]. Тем не менее, в ряде исследований установлено изменение структуры в спонтанно генерируемой пачечной активности и функциональной связанности под действием низкочастотной стимуляции [3, 16, 17, 18].

В 2001 году был предложен протокол обучения в культуре клеток коры мозга, на основе низкочастотной стимуляции (1-0.3 Гц) с обратной связью [14]. Низкочастотная стимуляция непрерывно подавалась на культуру клеток и при достижении заданного порогового ответа, в виде определённого числа импульсов, стимуляция на время отключалась. Затем цикл стимуляции до достижения заданного ответа повторялся. Было показано, что в нейрональных культурах время требуемое для вызова заданного ответа уменьшалось. С другой стороны, низкочастотная стимуляция без обратной связи не вызывала подобный эффект. Данный протокол обучения был воспроизведён в ряде работ [19, 20, 21, 3]. Для обучения в нейронной сети выбирался низкоактивный электрод, на котором в заданном диапазоне после стимула регистрировался в среднем один импульс за десять стимулов ($R/S = 0.1$). В другой работе [22] для обучения использовался электрод со средним значением $R/S = 0.5$. При длительной стимуляции (более шести циклов стимуляции) время достижения ответа не уменьшалось.

Целью данной работы является разработка адаптивной модели протокола обучения нейронной сети клеток гиппокампа *in vitro*. Предложен метод адаптации протокола обучения к активности обучаемого электрода. Метод позволяет использовать для обучения электроды, ответы R/S на которых в контрольной стимуляции были в диапазоне от 0.1 до 0.5. Порог для обучения вычислялся автоматически на основе значений ответов R/S . Данный подход позволяет применять протокол обучения для большинства электродов матрицы. После обучения изменения времени достижения заданного ответа на стимул сохранялись в течение 1.5 часов.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Культивирование нервных клеток

Клеточные культуры были получены от 18-дневных эмбрионов (E18) белых беспородных мышей. Основные правила содержания и ухода за экспериментальными животными соответствовали нормативам, данным в Приказе Минздрава России № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики в Российской Федерации». Диссоциирование клеток достигалось путем обработки ткани гиппокампа 0.25% трипсином (Invitrogen 25200-056). Клетки культивировали на 64-электродных матрицах (Alpha MED Sciences, Japan). Предварительно дно матриц обрабатывалось полиэтиленимином (Sigma P 3143), служившим для адгезии клеток. Исходная плотность клеточной культуры составила 8000 клеток/мм² (рис. 1). Поддержание жизнеспособности клеток осуществлялось в культуральной нейробазальной среде NeurobasalTM (Invitrogen 21103-049) в комплексе с биоактивной добавкой B27 (Invitrogen 17504-044), глутамином (Invitrogen 25030-024) и эмбриональной телячьей сывороткой (ПанЭко K055) в инкубаторе (MCO-18AIC, SANYO) при постоянных условиях: температуре 37°C, 100% влажности, и 5% CO₂ в воздухе. Антибиотики и противогрибковые препараты не использовались. Развитие глии не подавлялось, поскольку глиальные клетки необходимы для длительного сохранения жизнеспособности культуры в условиях *in vitro*. Половина объема среды менялась на новую каждые два дня. Эксперименты проводили после 3–6 недель развития культур клеток *in vitro*. Это обеспечивало функциональное и структурное созревание нейроглиальных сетей [23, 24].

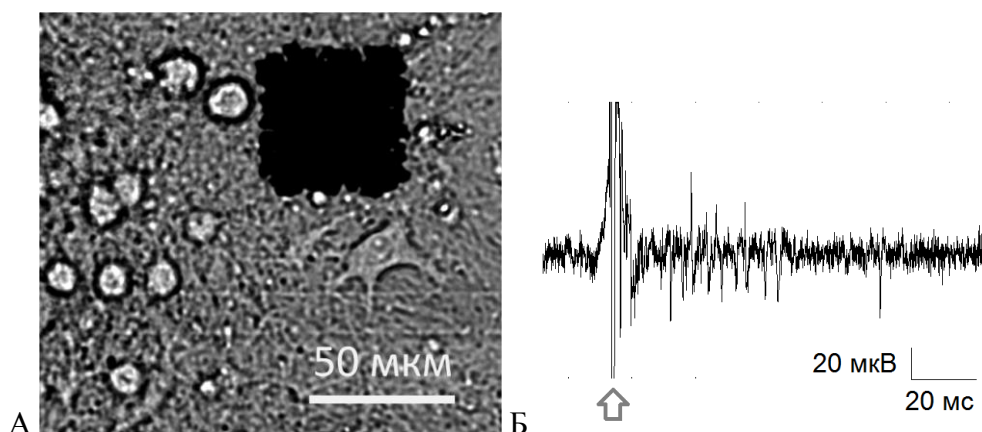


Рис. 1. А. Фрагмент культуры клеток гиппокампа на мультиэлектродной матрице. Размер электрода 50мкм x 50 мкм и 150мкм между электродами. Б. Регистрируемый ответ на электроде в ответ на электрический стимул. Стрелкой отмечен артефакт стимула.

2.2. Регистрация биоэлектрической активности

Внеклеточные потенциалы регистрировались одновременно на 64 (8x8) плоских электродах из платины, мультиэлектродной матрицы MED64 (Alpha MED Science, Japan). Размер микроэлектродов 50мкм x 50 мкм и 150мкм между электродами (рис. 1А). Запись происходила с частотой дискретизации сигнала 20кГц/канал. Система с обратной связью, включающая анализ сигнала в реальном времени и стимуляцию, выполнялась с помощью разработанной программы в среде Labview®.

2.3. Детектирование импульсов

Детектирование внеклеточно зарегистрированных импульсов было основано на вычислении медианного порога сигнала:

$$T = N_s \sigma, \sigma = \text{median} \left(\frac{|x|}{0.6745} \right), \quad (1)$$

где x – это сигнал с фильтрованной полосой частот (0.3-8 кГц), σ – это оценка медианы, нормированная на стандартное отклонение сигнала с нулевым числом импульсов [25] и $N_s = 4$ – коэффициент детектирования импульсов, определяющий порог детектирования [9]. Стандартное отклонение сигнала, включая Гауссов шум, равно медиане абсолютных значений этого сигнала, делённых на 0.6745. Таким образом, значение 0.6745 – это значение нормирования медианы на стандартное отклонение сигнала [25]. Следует отметить, что минимальный межимпульсный интервал, исключая перекрывание соседних импульсов, составлял 1.5 мс.

2.4. Протокол стимуляции

Для генерации стимулов был использован четырёхканальный стимулятор напряжением и током (STG4004, Multi Channel Systems, Germany). Стимуляция состояла из последовательности двухфазных прямоугольных импульсов напряжения (± 600 мВ и 300 мкс на одну фазу, первая положительная) с низкой частотой следования 0.05–0.06 Гц. Стимулы подавались через один электрод, который вызывал сетевой ответ, регистрируемый на других электродах. После каждого стимула вычислялось число импульсов в интервале от 40 до 80 мс после стимула. Текущий ответ (R/S) для каждого стимула на заданном электроде вычислялся как среднее число вызванных импульсов в ответ на предшествующие 10 стимулов. Контрольная стимуляция проводилась в течение 80 минут (10 мин – стимуляция, 5 мин – перерыв). Значения R/S для всех электродов вычислялось в течение стимуляции после каждого стимула. После проведения записи контрольной стимуляции вычислялся Средний ответ $M(R/S)$ и среднеквадратичное отклонение от Среднего ответа $\sigma(R/S)$ для всей записи для каждого электрода. Культуры перед началом обучения не подвергались стимуляции один час.

Обучение проводилось на одном выбранном электроде, имеющем значение $M(R/S)$ в диапазоне от 0.1 до 0.6 и стандартное отклонение $0.1 M(R/S) < \sigma(R/S) < 2 M(R/S)$ в контрольной стимуляции. Выбирались только такие электроды, стимуляция которых не приводила к значительным изменениям в ответах R/S в течение тестовой стимуляции. Основным параметром протокола являлось пороговое значение ответа R/S , который вычислялся на основе ответов в контрольной стимуляции. Пороговое значение R/S выбиралось как граница 10% наибольших значений R/S на выбранном электроде, которые наблюдались в контрольной стимуляции. Вычисленные значения порога для обучения варьировались от 0.3 до 0.7 в разных экспериментах. При достижении значения R/S на выбранном электроде порогового значения во время стимуляции стимуляция останавливалась автоматически на 5 минут с помощью обратной связи. Если пороговое значение R/S не было зарегистрировано в течении 10 минут цикла, стимуляция также отключалась на период 5 минут. Затем цикл повторялся снова. Для каждого цикла стимуляции с обратной связью регистрировался параметр $T_{R/S}$ – время достижения порогового значения R/S от начала стимуляции. Индикатором обучения служило значительное спадание времени достижения порога на выбранном электроде в течении 1-3 часов стимуляции с обратной связью.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследуем сначала ответ культуры на длительную (80 минут) низкочастотную стимуляцию (0.05-0.06 Гц) всех электродов, вызывающую популяционный ответ в сети. Частоту стимуляции подбираем таким образом, чтобы как можно большее число импульсов вызывало сетевой ответ в диапазоне от 20 до 500 мс. Мы использовали частоту 0.05 Гц в одном и 0.06 Гц в четырёх других экспериментах. Отметим, что в предыдущих исследованиях применялась более высокочастотная стимуляция с частотой 0.2-1.0 Гц [14, 3]. Мы уменьшили частоту стимуляции, поскольку стимулы с частотой 0,1 Гц и более не вызвали сетевого ответа в наших экспериментах. Основной характеристикой вызванных пачек является число импульсов в интервале от 40 до 80 мс после стимула (рис. 1Б). Ответ R/S после каждого стимула вычислялся как среднее число импульсов на последние десять стимулов. При частоте 0.06 Гц на это требуется 2.8 минут, против 50 секунд при частоте 0.2 Гц в прежних исследованиях [14, 21, 3]. Для обучения отбирались культуры, в которых число импульсов после стимула за первые и последние 30 стимулов статистически не отличались. Это согласуется с предыдущими исследованиями длительной стимуляции в культуре клеток [15, 26].

В предыдущих исследованиях [14, 19, 20, 21, 3] для протокола обучения выбирались электроды с характерными значениями средней величины ответов, $M(R/S) = 0,1$, а значение R/S , равное 0.2, было порогом для прекращения стимуляции ("подкрепление") на 5 минут. В наших экспериментах мы установили, что $38.2 \pm 8.4\%$ электродов в течение контрольной стимуляции имели $0 < M(R/S) \leq 0.1$ (5 культур). Количество электродов с $0 < M(R/S) \leq 0.5$ было $67.3 \pm 11.4\%$ от общего числа электродов (рис. 2).

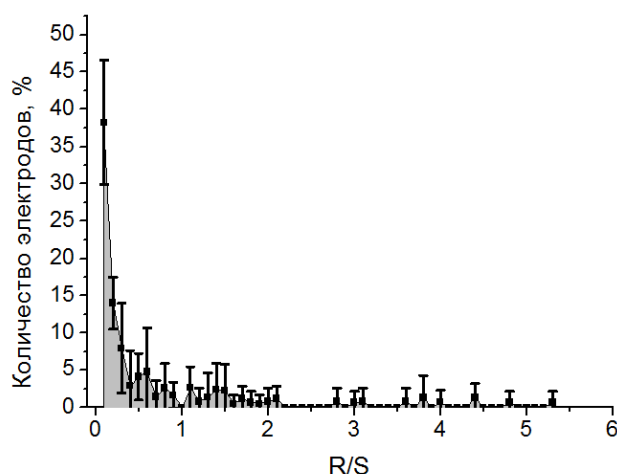


Рис 2. Распределение средних ответов $M(R/S)$ (см. методы) по количеству электродов в контрольной стимуляции ($n = 5$). Планки погрешностей показывают стандартное отклонение.

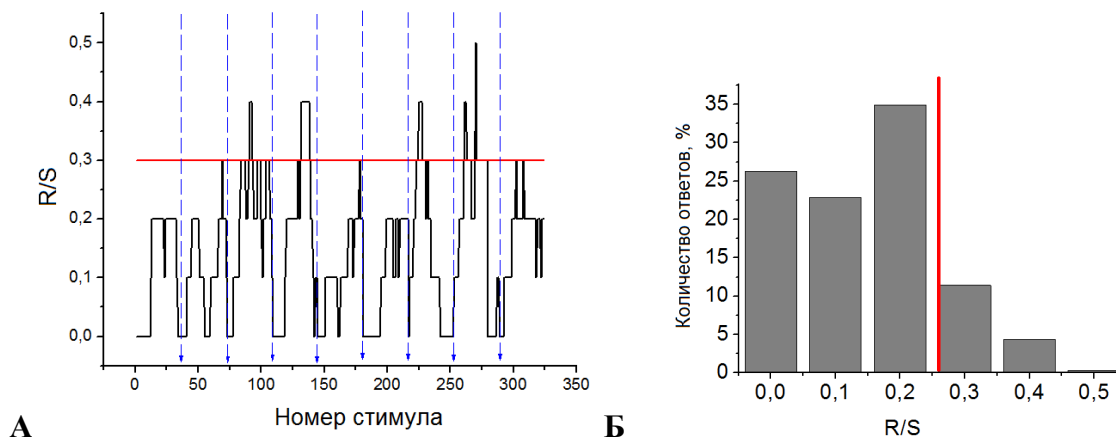


Рис. 3. А) Динамика значений ответа R/S (число вызванных импульсов в интервале 40-80 мс за каждые 10 стимулов, см. методы) для выбранного электрода в течение тестовой стимуляции. Синие пунктирные стрелки указывают на моменты отключения стимуляции на 5 минут. В каждой новой стимулирующей серии вычисление значения R/S начиналось заново (от нуля). Красная горизонтальная линия показывает пороговое значение R/S , которое выбиралось для последующего обучения. Б) Распределение значений R/S в контрольной стимуляции для выбранного электрода. Красная вертикальная линия показывает пороговое значение R/S выбранное для обучения.

На рис. 3А изображена динамика ответов R/S во время контрольной стимуляции, наблюдаемая на одном выбранном электроде. Синими стрелками отмечены времена отключения стимуляции. Отметим, что количество импульсов после стимула обладает определённой вариабельностью. Критерием обучения будем считать значительное снижение времени достижения порогового значения R/S при стимуляции. В ходе исследования было показано, что это пороговое значение R/S может быть автоматически установлено для выбранного электрода в зависимости от наблюдаемой активности в контрольной стимуляции. Распределение значений ответов для выбранного электрода изображено на рис. 3Б. Установлено, что наиболее эффективно обучение достигается при использовании порога обучения, соответствующего значению высоким значениям R/S (с вероятностью повторения 10%) (рис. 3Б). Для обучения выбирался электрод, для которого $0 < M(R/S) \leq 0,6$ в контрольной стимуляции и стандартное отклонение $0.1 M(R/S) < \sigma(R/S) < 2 M(R/S)$.

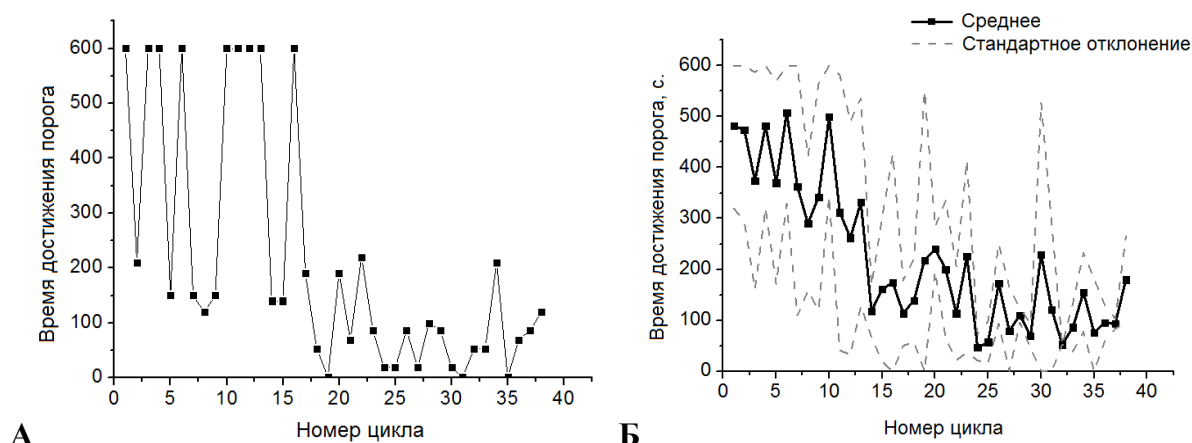


Рис 4. Динамика времени стимуляции требуемого для достижения заданного ответа (кривая обучения) А) Пример кривой обучения, полученной в одном эксперименте. Б) Кривая обучения, среднее для 5 экспериментов, пунктиром обозначено стандартное отклонение.

Для каждого цикла при стимуляции с обратной связью (обучении) регистрировалось время достижения порога - $T_{R/S}$. Затем после обучения в течении 1-4 часов строилась кривая обучения - $T_{R/S}(n)$, зависимость времени достижения порога от номера цикла (рис. 4А). В начале эксперимента достижение порогового значения R/S происходило случайно, благодаря вариабельности вызванного ответа. Далее наблюдалось уменьшение времени достижения порогового R/S , что мы интерпретировали как обучение. Предложенный протокол обучения был применён в 11 экспериментах (6 культур). Кривая обучения для 5 успешных экспериментов, приведена на рис. 4Б. Время $T_{R/S}$ значительно уменьшается через 14 циклов стимуляции. В двух случаях время стимуляции, требуемое для достижения заданного ответа, уменьшалось уже на 2-3 стимулирующем цикле. В среднем для достижения порогового R/S после обучения требовалось 1-2 минуты. Тем не менее, средние значения R/S и среднее число импульсов в ответе для 30 стимулов до и после обучения не отличались. Уменьшения $T_{R/S}$ до нуля в конце эксперимента не наблюдалось. В некоторых экспериментах после 2-4 часов стимуляции наблюдались высокие значения $T_{R/S}$. Такие случаи приводили к увеличению ошибки на некоторых участках усредненной кривой обучения. В 45.4% экспериментах (5 из 10) были получены результаты (рис. 4Б), которые интерпретировались как «успешное обучение», что в целом согласуется с работами [14, 3]. Для проверки сохранения достигнутого эффекта обучения применяли стимуляцию с обратной связью в течение 30 минут через 4-6 часов после остановки эксперимента. В трёх из четырёх проверенных таким образом экспериментов обучение сохранялось. Дальнейшие проверки показали исчезновение эффекта обучения.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе был предложен новый метод обучения в сети клеток гиппокампа, выращенных на мультиэлектродных матрицах. Метод разработан на основе ранее опубликованных работ [14, 3]. Важной особенностью предложенного метода является применение порога обучения в системе с обратной связью, который вычисляется на основе базовой активности обучаемого участка нейронной сети (электрода). Данный подход позволяет применить протокол обучения к большинству электродов на мультиэлектродной матрице, не накладывая строгих требований к базовой активности.

Мы применили предложенный протокол обучения, выбирая электроды со средним значением R/S от 0. до 0.5. Такой выбор электродов для обучения был эффективен в 5 из 11 экспериментов (45.4). Таким образом, эффективность предложенного протокола была сравнима с прежними исследованиями. Для достижения обучения нейронной сети требовалось, в среднем, 11-19 циклов стимуляции с обратной связью из которых в 5-10 случаях достигалось заданное пороговое значение R/S . Показано, что в результате обучения нейронной сети происходят изменения в её функциональной связанности на много большие, чем после низкочастотной стимуляции без обратной связи [14, 20, 3]. Тем не менее, механизм этих изменений остаётся не известным. Однако предложенный подход к обучению на основе уникальности динамики активности для разных участков нейронной сети указывает на гибкую структуру сети нейронов, обладающих как уникальными особенностями динамики активности, так и базовыми принципами адаптации и обучения.

Фундаментальные знания и технологии, полученные при исследовании обучения в культурах нейронов *in vitro*, должны создать основу для перехода к новым – нейроморфным принципам построения искусственного интеллекта. Перенос механизмов адаптивного обучения нейрональных популяций, на материальную базу

современной твердотельной электроники, может привести к новому этапу развития технологий создания интеллектуальных и робототехнических систем, за счет уникального сочетания адаптивности, надежности и масштабируемости. В частности эти причины послужили основой для объявления компанией IBM инициативы когнитивных вычислений (cognitive computing) и инвестиций агентства DARPA в проект SyNAPSE (Systems of Neuromorphic Adaptive Plastic Scalable Electronics) по созданию вычислительных устройств, реализующих нейроморфные принципы (<https://www.fbo.gov/download/0b6/0b62b2149395d4bd8a28dff1b9046944/BAA08-28.doc>). Очевидно также, что новые технологии создания нейрокомпьютерных интерфейсов, которые могут быть разработаны на основе исследований в данной области, могут быть адаптированы для решения целого ряда прикладных биомедицинских задач – нейропротезирования, мониторинга и диагностики работы мозга, доклинических исследований лекарственных препаратов.

Статья подготовлена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007-2013 годы», госконтракт № 07.514.12.4031.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Maccione A., Garofalo M., Nieuws T., Tedesco M., Berdondini L., Martinoia S. Multiscale functional connectivity estimation on low-density neuronal cultures recorded by high-density CMOS Micro Electrode Arrays. *J Neurosci Methods*. 2012. V. 9.
2. Frega M., Pasquale V., Tedesco M., Marcoli M., Contestabile A., Nanni M., Bonzano L., Maura G., Chiappalone M. Cortical cultures coupled to Micro-Electrode Arrays: a novel approach to perform in vitro excitotoxicity testing. *Neurotoxicol Teratol*. 2012. V. 34. № 1. P. 116–127.
3. le Feber J., Stegenga J., Rutten W.L.C. The Effect of Slow Electrical Stimuli to Achieve Learning in Cultured Networks of Rat Cortical Neurons. *PLoS ONE*. 2010. V. 5. № 1. P. 8871.
4. Raichman N., Ben-Jacob E. Identifying repeating motifs in the activation of synchronized bursts in cultured neuronal networks. *Journal of neuroscience methods*. 2008. V. 170. № 1. P. 96–110.
5. Shahaf G., Eytan D., Gal A., Kermany E., Lyakhov V., Zrenner C., Marom S. Order-Based Representation in Random Networks of Cortical Neurons. *PLoS Comput Biol*. 2008. V. 4. № 11. Article No. 1000228.
6. Kermany E., Gal A., Lyakhov V., Meir R., Marom S., Eytan D. Tradeoffs and Constraints on Neural Representation in Networks of Cortical Neurons. *J. Neurosci*. 2010. V. 30. № 28. P. 9588–9596.
7. Лебедев Р.Д., Бурцев М.С. Кластеризация пачек спонтанной активности нейрональной культуры. В: “Нейроинформатика 2010” в 2-х частях, Ч.1. М.: НИЯУ МИФИ, 2010. С. 296–303.
8. Xydias D., Downes J.H., Spencer M.C., Hammond M.W., Nasuto S.J., Whalley B.J., Becerra V.M., Warwick K. Revealing Ensemble State Transition Patterns in Multi-Electrode Neuronal Recordings Using Hidden Markov Models. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*. 2011. V. 19. № 4. P. 345–355.
9. Pimashkin A., Kastalskiy I., Simonov A., Koryagina E., Mukhina I., Kazantsev V. Spiking Signatures of Spontaneous Activity Bursts in Hippocampal Cultures. *Front Comput Neurosci*. 2011. V. 5. P. 46.
10. Potter S.M. Closing the Loop Between Neurons and Neurotechnology. *Front Neurosci*. 2010. V. 4. P. 15.

11. Maeda E., Robinson H.P.C., Kawana A. The mechanism of generation and propagation of synchronized bursting in developing networks of cortical neurons. *J Neurosci.* 1995. V. 15. P. 6834–6845.
12. Wagenaar D.A., Pine J., Potter S.M. Effective parameters for stimulation of dissociated cultures using multi-electrode arrays. *J Neurosci Meth.* 2004. V. 138. P. 27–37.
13. Wagenaar D.A., Madhavan R., Pine J., Potter S.M. Controlling Bursting in Cortical Cultures with Closed-Loop Multi-Electrode Stimulation *The Journal of Neuroscience.* 2005. V. 25. № 3. P. 680–688.
14. Shahaf G., Marom S. Learning in networks of cortical neurons. *J Neurosci.* 2001. V. 21. P. 8782–8788.
15. Chiappalone M., Massobrio P., Martinoia S. Network plasticity in cortical assemblies. *Eur J Neurosci.* 2008. V. 28. P. 221–237.
16. Bologna L.L., Nieuwenhuis T., Tedesco M., Chiappalone M., Benfenati F., Martinoia S. Low-frequency stimulation enhances burst activity in cortical cultures during development. *Neuroscience.* 2010. V. 3. № 165. P. 692–704.
17. Brewer G.J., Boehler M.D., Ide A.N. Wheeler Chronic electrical stimulation of cultured hippocampal networks increases spontaneous spike rates. *Journal of Neuroscience Methods.* 2009. V. 184. P. 104–109.
18. Ide A.N., Andruska A., Boehler M., Wheeler B.C., Brewer G.J. Chronic network stimulation enhances evoked action potentials. *Journal of Neural Engineering.* 2010. V. 7. № 1. P. 016008.
19. Marom S., Shahaf G. Development, learning and memory in large random networks of cortical neurons: lessons beyond anatomy. *Q Rev Biophys.* 2002. V. 35. P. 63–87.
20. Yanling Li, Wei Zhou, Xiangning Li, Shaoqun Zeng, Qingming Luo. Dynamics of Learning in Cultured Neuronal Networks with Antagonists of Glutamate Receptors. *Biophysical Journal.* 2007. V. 93. № 12. P. 4151–4158.
21. Stegenga J., Le Feber J., Marani E., Rutten W.L.C. The Effect of Learning on Bursting. *Biomedical Engineering.* 2009. V. 56. № 4. P. 1220–1227.
22. Staveren G.W., Buitengeweg J.R., Marani E., Rutten W.L.C. The effect of training of cultured neuronal networks, can they learn? In: *Neural Engineering Conference Proceedings.* 2005. P. 328–331.
23. Eytan D., Brenner N., Marom S. Selective Adaptation in Networks of Cortical Neurons. *The Journal of Neuroscience.* 2003. V. 23. № 28. P. 9349–9356.
24. Мухина И.В., Иудин Д.И., Захаров Ю.Н., Симонов А.Ю., Пимашкин А.С., Казанцев В.Б. Стабильность и вариабильность паттернов сетевой активности развивающихся нейронных сетей мозга: биологические и математические модели. В: *Труды научной сессии НИЯУ МИФИ-2010.* М.: НИЯУ МИФИ. 2010. Т. 3. С. 184–192.
25. Quiroga R., Nadasdy Q., Ben-Shaul Y. Unsupervised Spike Detection and Sorting with Wavelets and Superparamagnetic Clustering. *Neural Computation.* 2004. V. 16. P. 1661–1688.
26. Wagenaar D.A., Pine J., Potter S.M. Searching for plasticity in dissociated cortical cultures on multi-electrode arrays. *J. Negat. Results Biomed.* 2006. V. 5. P. 6.

Материал поступил в редакцию 11.10.2012, опубликован 18.10.2012.